R. UNIVERSITÀ DI PISA
ISTITUTO DI PATOLOGIA VEGETALE
E DI MICROBIOLOGIA AGRARIA E TECNICA
R. OSSERVATORIO REGIONALE DI FITOPATOLOGIA

IMPERIAL MYCOLOGICAL INSTITUTE
AUG 1946

166

R. PEROTTI E O. VERONA

AZIONE DEL CARBONE SOPRA I MICRORGANISMI

(A proposito di una Nota di A. ARATA)

Estratto dal *Bollettino della Facoltà di Agraria*
Vol. XIV - 1938 - XVI

PISA, PREMIATO STABILIMENTO TIPOGRAFICO G. CURSI & FIGLI - 1938 XVI

R. PEROTTI E O. VERONA

AZIONE DEL CARBONE SOPRA I MICRORGANISMI

(A proposito di una Nota di A. ARATA)

RIASSUNTO: *Nella presente Nota gli Aa. tornano a dimostrare, sulla scorta di nuovi dati sperimentali, la irrefutabile benefica azione esercitata, sullo sviluppo dei microrganismi, dai carboni vegetale ed animale aggiunti – in determinate e precisate quantità – ai substrati colturali.*

Già da qualche tempo, uno di noi (PEROTTI) ha messo in evidenza i positivi favorevoli risultati sullo sviluppo microrganico, delle aggiunte ai substrati colturali di polvere di carbone (1).

Tale benefica azione fu riscontrata in seguito da A. REINHARD e V. OBRASTZOVA nei riguardi della fermentazione alcoolica (2), indi da PREVITERA sullo sviluppo del meningococco (3).

Nonostante tali conferme che assumono tanto maggiore valore in quanto ottenute attraverso colture di germi molti diversi, quali i fermenti alcoolici, da una parte, ed il meningococco dall'altra, in epoca relativamente recente A. ARATA (4) ha voluto appurare se il carbone

---

(1) – Vedi, anche per l'indicazione dei lavori precedenti:
R. PEROTTI – *Action du charbon sur les microrganismes.* Boll. Sez. It. d. Soc. Int. di Microbiologia, vol. VII, 1935.

(2) – A. REINHARD e V. OBRASTZOVA – *Influence du charbon sur la fermentation alcoolique.* id., vol. VII, 1935.

(3) – A. PREVITERA – *Terreni con aggiunta di carbone per la coltura del meningococco in assenza di liquidi albuminosi.* Diagnostica e Tecnica di Laboratorio, vol. VII, 1036.

(4) – A. ARATA – *L'influence des charbons adsorbants sur le développement de certaines bactéries dans les milieux de colture ordinaires.* Boll. d. Sez. Ital. d. Soc. Int. di Microbiologia, vol. IX, 1927.

esercita realmente un'azione stimolante (.... " j'ai voulu avérer si le charbon dèveloppe réellement une action stimulant.... ").

I risultati cui l' A. è pervenuto gli suggeriscono di concludere, almeno per i germi da lui sperimentati, che i vari carboni aggiunti agli ordinari mezzi colturali solidi non migliorano, dal punto di vista della quantità, lo sviluppo batterico che risulterebbe anzi impedito.

Senza indagare i motivi che hanno suggerito ad A. ARATA di controllare se *realmente* PEROTTI prima e REINHARD, OBRASTZOVA, PREVITERA ed altri, del resto, in seguito, abbiano dato nel giusto, ci limitiamo ad osservare che i negativi risultati su cui l'A. basa le sue conclusioni non sono accettabili, non soltanto perchè contravvengono a norme elementari di critica scientifica, ma anche perchè dedotti da esperienze viziate di impostazione e di metodo.

Poichè, volendo realmente controllare i risultati dei precedenti Aa., egli avrebbe dovuto mettersi nelle condizioni sperimentali più opportune, comunque assai varie, onde cogliere il fenomeno nella sua reale portata. Cioè:

1) - sperimentare con germi capaci di dare, per loro natura, patine piuttosto abbondanti sì che le differenze di sviluppo risultassero decisamente evidenti;

2) - impiegare substrati più ricchi del solo agar e, parallelamente ad esso, qualora lo avesse cruduto opportuno, sempre al fine di mettere i germi nelle migliori condizioni di sviluppo;

3) - fare uso di quantità varie di carbone, poichè non sarebbe stato possibile di stabilire, a priori, l' influenza esercitata dal fattore dose.

Quest' ultima osservazione ha particolare valore; ed infatti PEROTTI e suoi collaboratori avevano stabilito limiti quantitativi all'azione favorevole del carbone e non soltanto riguardo allo sviluppo microrganico ma anche a quello dei vegetali superiori. Per questi, notiamo di passaggio, si fissarono aggiunte pari a 2-3 Q.li ad Ea. D'altra parte si dimostrava, come è stato accennato, che aggiunte di car-

bone in dosi eccessive, anzichè esercitare azioni di contatto o di stimolo, reprimevano qualsiasi sviluppo.

Ora, PREVITERA, ispirandosi ai nostri precedenti lavori conteneva le dosi entro il 4‰, mentre ARATA, in un primo gruppo di esperienze, le portava, senza darne giustificazione, al 20 ‰! (Perchè non sperimentare in dosi seriate ?). Avendo ottenuto – naturalmente – risultato negativo, in un secondo gruppo di esperienze portava le dosi a quelle suggerite da PREVITERA, ottenendo buoni risultati per *B. coli* e non per il tifo ed il colera. Perchè, per questi, non abbassare ancora le dosi? Forse avrebbe allora conseguito altri risultati che gli avrebbero permesso di confermare quelli già ottenuti da PREVITERA e modificare, quindi, le sue negative, scientificamente ripudiabili, conclusioni.

Le quali, torniamo noi a confutare, nella presente Nota, non soltanto in base alle brevi argomentazioni critiche esposte, ma in base, anche, a nuovi dati sperimentali.

Esperienza 1.

In matracci da cc. 100 sono distribuiti cc. 50 di agar al 2 %. Uno è mantenuto di controllo, senza carbone; negli altri è stato aggiunto polvere di carbone animale o di carbone vegetale in diverse proporzioni.

Sterilizzati in autoclave sono stati distribuiti in piastre sterili del diametro di cm. 17. Dopo averle tenute 24^h in stufa sono state seminate con cc. 0,1 di una sospensione batterica. Dopo un determinato numero di giorni di coltura sono state raccolte le patine e pesate previa essiccazione a 110°C.

Oltre a *B. coli* e *B. mesentericus,* fu sperimentato anche con *B. acetigenum* per presentare questo la singolare proprietà di dare patine abbondanti. Nel solo agar, però, dimostrò di sviluppare scarsamente o nulla, dando patine non ponderabili.

L'esperienza dimostra, ad ogni modo, che i carboni vegetale ed

TAB. I – (risultati relativi alla I esperienza)

		B. coli patina raccolta dopo 3 giorni di coltura a 26°C gr. di s. secca a 110°C.	*B. mesentericus* patina raccolta dopo 7 giorni di coltura a 26°C gr. di s. secca a 110°C
Controllo		0.0587–0.0604	0.0832–0.0861
Carbone vegetale %	0.01	0.0581–0.0598	0.0880–0.0874
„	0.05	0.0618–0.0642	0.0914–0.0947
„	0.10	0.0686–0.0694	0.0918–0.0932
„	0.25	0.0702–0.0712	0.0905–0.0890
„	0.50	0.0609–0.0614	0.0870–0.0888
„	0.75	0.0602–0.0609	0.0704–0.0731
„	1.–	0.0448–0.0471	0.0715–0.0719
Carbone animale %	0.01	0.0590–0.0594	0.0848–0.0862
„	0.05	0.0600–0.0638	0.0881–0.0898
„	0.10	0.0677–0.0679	0.0893–0.0915
„	0.25	0.0681–0.0700	0.0907–0.0924
„	0.50	0.0595–0.0608	0.0901–0.0906
„	0.75	0.0584–0.0591	0.0833–0.0852
„	1.—	0.0466–0.0492	0.0727–0.0700

animale aggiunti all' agar favoriscono lo sviluppo di *B. coli* e di *B. mesentericus* sempre chè le quantità aggiunte siano contenute entro lo 0.5–0.75 %. Aggiunte superiori sortono esito negativo.

Esperienza II.

Come la precedente esperienza, ma con carboni vegetale ed animale " attivati „.

I risultati conseguiti (v. tab. II) indicano che i carboni vegetale ed animale "attivati„ dimostrano un comportamento analogo a quello presentato dagli stessi carboni non attivati. Forse, anzi, leggermente superiore nelle piccole dosi. Per dosi elevate la loro azione inibente risulterebbe maggiore dei primi.

Esperienze III e IV.

Come le precedenti. Soltanto, invece dell' agar-acqua, è stato fatto uso dell'agar-carne per *B. coli* ed agar-fagiuoli saccarosato al 2 % per *B. acetigenum*. Per brevità abbiamo tralasciato di sperimen-

TABELLA II – (risultati relativi alla II esperienza).

		B. coli patina raccolta dopo 3 giorni di coltura a 26°C gr. di s. secca a 110°C.	*B. mesentericus* patina raccolta dopo 3 giorni di coltura a 26°C. gr. di s. secca a 110°C.
Controllo		0.0449–0.0565	0.0710–0.0902
Carb. veg. attivato %	0.01	0.0530–0.0574	0.0748–0.0883
" "	0.05	0.0541–0.0606	0.0790–0.0860
" "	0.10	0.0632–0.0687	0.0834–0.0860
" "	0.25	0.0600–0.0663	0.0809–0.0821
" "	0.50	0.0510–0.0606	0.0780–0.0794
" "	0.75	0.0487–0.0580	0.0780–0.0795
" "	1.—	0.0400–0.0415	0.0620–0.0683
Carb. anim. attivato %	0.01	0.0496–0.0531	0.0760–0.0812
" "	0.05	0.0502–0.0596	0.0810–0.0846
" "	0.10	0.0566–0.0587	0.0830–0.0877
" "	0.25	0.0581–0.0590	0.0782–0.0820
" "	0.50	0.0490–0.0530	? ?
" "	0.75	0.0400–0.0420	? ?
" "	1.—	0.0403–0.0417	0.0580–0.0635

tare *B. mesentericus* mentre, per le ragioni altrove dette, abbiamo operato con *B. acetigenum :* in ogni caso ci siamo limitati ad aggiunte massime di carbone dello 0.75 %.

I risultati ottenuti dimostrano che, favorendo lo sviluppo dei germi con l'impiego di adatti substrati o coltivando germi capaci di dar luogo a patine abbondanti, l' influenza dei carboni sul loro sviluppo

TAB. III – (risultati relativi alle esperienze III e IV)

		B. coli patina raccolta dopo 3 giorni di coltura a 26°C. gr. di s. secca a 110°C.	*B. acetigenum* patina raccolta dopo 10 giorni di coltura a 26°C. gr. di s. secca a 110°C.
Controllo		0.0673–0.0700	0.1943–0.1980
Carbone vegetale %	0.01	0.0679–0.0723	0.1950–0.1992
" "	0.05	0.0704–0.0718	0.1998–0.2061
" "	0.10	0.0742–0.0770	0.2060–0.2092
" "	0.25	0.0740–0.0758	0.2073–0.2080
" "	0.50	0.0610–0.0670	0.1920–0.1987
" "	0.75	0.0566–0.0593	0.1920–0.1935
Carbone animale %	0.71	0.0680–0.0713	0.1947–0.1980
" "	0.05	0.0700–0.0725	0.1990–0.2050
" "	0.10	0.0751–0.0754	0.2058-0.2084
" "	0.25	?	?
" "	0.50	0.0634–0.0680	0.1966–0.1969
" "	0.75	0.0580–0.0590	0.1850–0.1871
Controllo		0.0628–0.0690	0.1901–0.1955
Carbone vegetale %	0.01	0.0636–0.0715	0.1917–0.1971
" "	0.05	0.0690–0.0730	0.1985–0.2106
" "	0.10	0.0697–0.0748	0.2090–0.2100
" "	0.25	0.0680–0.0746	0.1998–0.2057
" "	0.50	0.0610–0.0641	0.1878–0.1900
" "	0.75	0.0620–0.0633	0.1850–0.1872
" animale	0.01	0.0630–0.0687	0.1900–0.1960
" "	0.05	0.0701–0.0723	0.1970–0.1984
" "	0.10	0.0695–0.0740	?
" "	0.25	0.0703–0.0750	0.1991–0.2048
" "	0.50	0.0660–0.0666	0.1860–0.1894
" "	0.75	0.0606–0.0625	0.1802–0.1817

appare più dimostrativa. E sempre si manifesta positiva se contenuta, in tale caso, entro limiti non superiori allo 0.25 %.

Dal confronto dei risultati delle esperienze III e IV con quelli delle esp. I e II apparirebbe che tanto maggiormente ricco è il substrato tanto meno tollerate sono le forti dosi di carbone.

Esperienze V e VI.

In beutine da cc. 100 sono stati distribuiti cc. 25 di infuso di malto. In una, da servire di controllo, non è stato aggiunto carbone; nelle altre sono stati aggiunti i vari carboni nelle quantità comprese tra lo 0.01 e 1 %. Previa sterilizzazione, i recipienti sono stati tutti inoculati con *Pseudomycoderma matalense*, fungo artrosporeo capace di formare con facilità feltri in superficie. Dopo cinque giorni di coltura a temperatura ambiente i feltri sono stati tolti, lavati, essiccati a 110°C. e pesati risultando:

TAB. IV – (risultati di cui alle esperienze V e VI)
Peso dei feltri di *Pseudomyc. matalense* dopo 5 giorni di coltura.
gr. di s. secca a 110°C. – controllo 0.034

%	c. vegetale	c. animale	c. veg. attivato	c. anim. attivato
0.01	0.034	0.036	0.040	0.035
0.05	0.037	0.044	0.038	0.038
0.10	0.042	0.040	0.044	0.042
0.25	0.053	0.049	0.051	0.054
0.50	0.040	0.037	0.048	0.041
0.75	0.041	0.031	0.040	0.042
1.—	0.028	0.033	0.030	0.032

I dati raccolti dimostrano che, anche in mezzi liquidi, i carboni esplicano – entro determinate dosi – favorevoli effetti sullo svi-

luppo microrganico; almeno per quanto si riferisce al germe sperimentato.

Esperienze VII e VIII.

Come le precedenti esp. V e VI, ma con substrato rappresentato da cc. 50 di birra, coltivandosi *Bact. acetigenum.* Esso è stato tenuto in coltura 8 giorni. A termine delle esperienze sono state pesate le membrane e titolata l'acidità formatasi nel mezzo.

TAB. V – (dati relativi alle esp. VII e VIII)
Peso delle membrane di *Bact. acetigenum* (P) in gr. di s. secca a 110°C e acidità % (A) calcolata in ac. acetico dopo 8 g. di coltura
[controllo P = 0,452 ; A = 1,02]

%	c. vegetale		c. animale		c. veg. attivato		c. anim. attivato	
	P	A	P	A	P	A	P	A
0.01	0.535	1.45	0.507	1.53	0.541	1.66	0.490	1.58
0.05	0.514	1.29	0.510	1.37	0.538	1.60	0.506	1.60
0.10	0.446	0.92	0.435	1.02	0.487	1.20	0.491	1.22
0.25	0.402	0.84	0.400	0.78	0.426	1.—	0.430	0.98
0.50	0.411	0.66	0.370	0.71	0.430	0.80	0.395	0.72
0.75	0.375	0.68	0.382	0.60	0.380	0.82	0.372	0.65
1.—	0.287	0.66	0.290	0.62	0.305	0.78	0.280	0.60

Emerse che lo sviluppo e l'attività di *Bact. acetigenum* beneficiano indubbiamente della presenza nel mezzo dell'uno o dell'altro carbone. Tale presenza deve, però, essere contenuta entro limiti assai bassi, mai superiori allo 0.01–0.05 %.

Esperienze IX e X.

Oltre ai germi ricordati si è voluto provare anche l'influenza dei carboni su *Mycoderma vini.* Tale microrganismo si presta bene, come gli altri, per simili ricerche sviluppando esclusivamente in superficie del substrato ove forma una tipica pellicola. Per tali espe-

rienze, però, non si fece uso di semplici matracci ma di particolari dispositivi atti a separare il carbone prima del prelievo della membrana. Essa essendo labile, non poteva infatti asportarsi intera come

TAB. VI – (dati relativi alle esperienze IX e X)
Peso, in gr., di corpo secco (a 110°C.) di fioretta *(Mycoderma vini)*

		c. vegetale	c. animale	c. veg. attivato	c. anim. attivato
controllo (*)		0.098	0.101	0.102	0.117
carbone aggiunto %	0.01	0.115	0.112	0.132	0.122
	0.05	0.127	0.129	0.133	0.124
	0.10	0.131	0.130	0.154	0.132
	0.25	0.130	0.130	0.174	0.146
	0.50	0.142	0.126	0.162	0.135
	0.75	0.137	0.128	0.170	0.135
	1.—	0.139	0.122	0.138	0.106

(*) – Siccome queste esperienze furono eseguite separatamente l'una dall'altra fu necessario, volta volta, di effettuare i relativi controlli.

accadeva di fare con gli altri germi, nè si poteva separare per filtrazione se non avvenuta la eliminazione del carbone.

Le colture, che furono allestite su vino diluito al 30 %, si mantennero a temperatura ambiente per 48 ore. Come al solito, a termine delle esperienze fu pesato il corpo secco di "fioretta,, a 110°C.

Orbene, anche *Mycoderma vini,* dimostrò di beneficiare delle aggiunte, nel mezzo, di carbone, in relazione alla natura ed alla quantità di esso.

Pisa, Facoltà di Agraria della R. Università
Istituto di Patologia Vegetale e Microbiologia agraria e tecnica

(Presentata il 20 ottobre 1938 – XVI)